Заключение диссертационного совета

99.0.064.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

аттестационное дело №_____

решение диссертационного совета от 27 октября 2026 г., №3

О присуждении Ананьеву Алексею Александровичу, российское гражданство, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Ассоциированные с *Vitis amurensis* Rupr. микроорганизмы, как стимуляторы роста растений» по специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки) принята к защите 3 августа 2026 г., протокол №2 диссертационным советом 99.0.064.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-тия Владивостока, 159, №1108/нк от 16.11.2017 г.

Соискатель Ананьев Алексей Александрович, 4 апреля 1998 года рождения. В 2022 г. окончил с отличием магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» по направлению подготовки 06.04.01 Биология. 30 сентября 2026 г. окончил очную аспирантуру по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки при ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН. С 2020 года работал лаборантом, инженером, а с 2023 г. по настоящее время является младшим научным сотрудником лаборатории биотехнологии ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Алейнова Ольга Артуровна, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии.

Официальные оппоненты:

Максимов Игорь Владимирович, доктор биологических наук, профессор, «Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр» РАН, главный научный сотрудник, зав. лаб. биохимии иммунитета растений;

Мельникова Дарья Игоревна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, научный сотрудник лаборатории фармакологии дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» СО РАН, г. Иркутск в своем положительном отзыве, подписанном к.б.н., старшим научным сотрудником лаборатории физиологической генетики Павличенко Василием Валерьевичем, указала, что «диссертационная работа представляет собой завершенную научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Новые научные результаты имеют существенное значение для понимания механизмов растительно-микробных взаимодействий, а также для разработки новых методик для повышения продуктивности и хозяйственной ценности растений. По актуальности темы, научному уровню, теоретической и практической значимости результатов диссертационная работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, а её

автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки)».

Соискатель имеет 35 опубликованных работ, из них 10 по теме диссертации, в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК опубликовано 3 статьи. Работы посвящены исследованию бактериальных эндофитов, выделенных из *Vitis amurensis*, на способность к колонизации и на влияние на рост растений. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. 7 работ опубликованы во всероссийских, международной конференциях. Авторский вклад соискателя в опубликованные в соавторстве работы составляет не менее 50%. Объем опубликованных работ по теме диссертации – 61 п.л.

Наиболее значительные работы:

1. Ananev A. A. Whole Genome of Gordonia aichiensis P6PL2 Associated with *Vitis amurensis* That Stimulates Plant Growth / A. A. Ananev, O. A. Aleynova, N. N. Nityagovsky [et al.] // Horticulturae. – 2025. – Vol. 11. – № 7. – P. 735. – DOI: 10.3390/horticulturae11070735.

2. Aleynova O. A. The Influence of Wild Grapevine Endophytes on the Growth of the Model Plant *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh / O. A. Aleynova, A. A. Ananev, N. N. Nityagovsky [et al.] // Life. – 2026. – Vol. 16. – № 4. – P. 566. – DOI: 10.3390/life16040566.

3. Aleynova O. A. Ability of Different Bacteria from Grapevine to Colonize *Arabidopsis thaliana* / O. A. Aleynova, A. A. Ananev, N. N. Nityagovsky [et al.] // Plants. – 2026. – Vol. 15. – № 8. – P. 1151. – DOI: 10.3390/plants15081151.

На автореферат поступило 4 положительных отзыва из следующих организаций: 2 отзыва из Федерального научного центра агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (д.б.н., в.н.с. лаб.селекционно-генетических исследований полевых культур Мацишина Н.В.и к.б.н., в.н.с. Фисенко П.В.); Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (к.х.н., н.с. лаб. клеточных технологий Агеенко Н.В.); Дальневосточного

федерального университета (к.б.н., доцент каф. биохимии и биотехнологии Чопенко Н.С.).

Имеются замечания и вопросы:

в отзыве д.б.н. Мацишиной Н.В., ФНЦ агробиотехнологий ДВ им.А.К. Чайки

«Способность к «фиксации азота», выявленная на среде Эшби у 39 изолятов (в т.ч. у всех трёх приоритетных штаммов), в дальнейшем не подтверждается на генетическом уровне: как указывает сам автор, полный nif-оперон не обнаружен ни в одном из трёх секвенированных геномов. Автор постулирует «альтернативные механизмы ассимиляции азота», однако это остаётся гипотезой, не подкреплённой прямыми экспериментальными данными (например, анализом экспрессии соответствующих генов или изотопным методом 15№2). Формулировка вывода 1, где «фиксация N» указана как один из ростостимулирующих признаков подтверждённых штаммов, в этом контексте выглядит недостаточно строгой.

Среди штаммов, выбранных для дальнейшего изучения, присутствуют представители родов, включающих клинически и фитопатологически значимые виды (*Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, а также вид *Pseudomonas marginalis*, известный, в том числе, как возбудитель мягкой гнили и некроза сердцевины ряда овощных культур). В автореферате отсутствуют данные о целенаправленной проверке отсутствия у изучаемых изолятов фитопатогенных детерминант, что представляется существенным упущением с точки зрения обоснования безопасности штаммов как основы будущих биопрепаратов.

В работе отмечается разнонаправленный эффект инокуляции на A. thaliana: угнетение роста гипокотиля и корня на 7-е сутки сменяется стимуляцией биомассы к 30-м суткам лишь у двух из семи колонизировавших растение штаммов. Причины столь выраженной разнонаправленности (стрессовая реакция на бактериальную нагрузку, ингибирующий эффект избытка ИУК) обсуждаются на уровне общих предположений, без прямой экспериментальной

проверки (например, без определения фактической концентрации ИУК в ризосфере/тканях на разных сроках).

Количественная оценка фитогормонов методом ВЭЖХ-МС носит качественный, а не количественный характер (идентификация по соответствию эталонным масс-спектрам без определения концентраций), что ограничивает возможность содержательного сопоставления продуктивности штаммов между собой и с литературными данными.

В тексте встречаются отдельные терминологические неточности и опечатки.

Не вполне ясна логика статистической обработки для части экспериментов: подписях к рисункам фигурируют одновременно «независимые эксперименты» и «технические повторности» в весьма больших количествах (например, 10 независимых экспериментов с 20 техническими повторностями), но в разделе «Материалы и методы» единый регламент числа биологических и технических повторностей не приведён, что затрудняет оценку статистической мощности представленных сравнений.

Вопросы:

Проводилась ли и планируется ли в дальнейшем проверка отсутствия фитопатогенного потенциала у штаммов, относящихся к родам с известными патогенными представителями - например, тест на образование опухолей на модельных растениях, ПЦР-скрининг генов вирулентности или Ti-плазмиды, оценка пектолитической активности? Насколько это необходимо, на взгляд автора, для дальнейшего продвижения данных штаммов в качестве кандидатов для биопрепаратов?

Чем, по мнению автора, объясняется отсутствие полного nif-оперона в геномах штаммов *Gordonia aichiensis* P6PL2, *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 и *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 при их положительном росте на безазотной среде Эшби, и какие эксперименты позволили бы однозначно подтвердить или опровергнуть гипотезу об «альтернативных механизмах ассимиляции азота» (в частности, о роли нитрат- /нитритредуктаз)?

Чем объясняется разнонаправленный характер влияния одних и тех же штаммов на морфометрические показатели *Arabidopsis thaliana* на разных сроках развития (угнетение роста гипокотиля и корня 7-дневных проростков против стимуляции биомассы 30-дневных розеток), и проводилось ли прямое определение содержания ИУК и/или экспрессии генов, связанных с ауксиновым сигналингом, в тканях растений на этих сроках, чтобы разграничить гипотезы о стрессовой реакции на бактериальную нагрузку и об ингибирующем избытке ауксина?

Планируется ли количественное (а не только качественное) определение содержания идентифицированных фитогормонов (ИУК, транс-зеатина, №6-изопентениладенина) в культуральных экстрактах штаммов *G. aichiensis* P6PL2, *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5, а также оценка их стабильности и продуктивности синтеза во времени, что важно для перехода от лабораторного скрининга к технологии производства биопрепарата?»

в отзыве к.б.н. Фисенко П.В., ФНЦ агробиотехнологий ДВ им. А.К. Чайки

«1. В работе отмечено, что штамм *P. agglomerans* P7SCH-B5 продуцирует цитокинины, несмотря на отсутствие в его геноме генов семейства LOG, отвечающих за финальный этап биосинтеза. Автор справедливо указывает на этот факт, однако механизмы альтернативного биосинтеза или возможная роль горизонтального переноса генов в данном случае требуют дополнительного обсуждения или экспериментального уточнения в будущих исследованиях.

2. Оценка ростостимулирующего эффекта проводилась в лабораторных условиях (климатическая камера, стерильный субстрат или фильтровальная бумага). Для полноценной рекомендации штаммов к практическому применению целесообразно проведение полевых испытаний на сельскохозяйственных культурах с учетом реальных почвенно-климатических условий».

в отзыве к.б.н. Чопенко Н.С., ДВФУ

«Автор указывает на значительное замедление роста корня *A. thaliana* на 7 сутки после инокуляции. Однако в автореферате недостаточно глубоко проанализированы физиологические механизмы этого явления».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования, имеющие научные школы, способные определить научную и практическую ценность диссертации, давшие своё согласие (пп. 22,24 Положения… от 24.09.2013 г., №842).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная основа для создания биопрепаратов стимулирующих рост растений на основе эндофитных бактерий *V. amurensis* Rupr.;

предложены штаммы *Gordonia aichiensis* P6PL2, *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 и *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 в качестве перспективных кандидатов для создания биопрепаратов, стимулирующих рост растений.

доказана способность *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5 стимулировать рост *O. sativa* сорта Дубрава, а также установлены механизмы стимуляции, включающие синтез фитогормонов и мобилизацию питательных элементов: азота и фосфора.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано наличие бактерий в дикорастущем винограде *V. amurensis*, которые способны стимулировать рост растений путём биосинтеза фитогормонов и увеличения биодоступности азота и фосфора, важных элементов для питания растений;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы традиционные и современные методы микробиологии, молекулярной биологии и биохимии, включая: микробиологический высев и культивирование эндофитных бактерий, оценка микробиологической активности бактериальных изолятов, анализ влияния бактериальных изолятов

на морфометрические показатели растений, методы выделения и анализа нуклеиновых кислот, в том числе количественный ПЦР с детекцией результатов в реальном времени, секвенирование по Сэнгеру, метагеномное и полногеномное секвенирование с использованием секвенирования нового поколения, ВЭЖХ с УФ и масс-спектрометрией;

изложены и обоснованы теоретические предпосылки использования эндофитных бактерий *V. amurensis* в качестве основы для создания биопрепаратов, стимулирующих рост растений;

раскрыты механизмы ростостимулирующего действия исследуемых штаммов, обусловленные продукцией фитогормонов, мобилизацией элементов минерального питания;

изучены особенности взаимодействия эндофитных бактерий *V. amurensis* с модельным растением и сельскохозяйственной культурой риса;

проведена модернизация подходов к скринингу и характеристике бактерий, стимулирующих рост растений, за счёт интеграции микробиологических и молекулярно-генетических методов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждены тем, что:

разработан метод оценки колонизации микроорганизмов в культуре реципиенте, который основан на определении уровня специфических ампликонов ДНК (amplicon sequence variant, ASV) интересующих микроорганизмов, который существенно упрощает установление эндофитного статуса микроорганизмов;

определены наиболее перспективные штаммы эндофитных бактерий выделенных из *V. amurensis* для стимулирования роста растений;

предложена модель повышения роста растений с помощью эндофитных бактерий *V. amurensis*;

представлены методические рекомендации по использованию полученных технологий для повышения роста растений.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для экспериментальных работ надежность результатов обеспечивалась комплексом взаимодополняющих апробированных методик, статистической обработкой полученных результатов и воспроизводимостью проведённых экспериментов. Эксперименты были спланированы и выполнены с применением современных методов исследования на приборной базе мирового уровня;

теория и теоретическая модель представленная соискателем, согласуется с принятой общемировой научной концепцией в данной области и в значительной мере развивает её;

идея базируется на анализе мировой литературы посвящённой роли эндофитных микроорганизмов в регуляции роста растений и потенциале их применения для повышения урожайности сельскохозяйственных культур;

использован комплексный анализ авторских экспериментальных данных в сочетании с ранее полученными результатами, посвящённых изучению взаимодействия растений с эндофитными бактериями и их роли в стимуляции роста растений.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах процесса исследования и заключается в сборе материала, в планировании экспериментов, обработке и анализе данных, обсуждении и описании полученных результатов, написании научных публикаций и представлении исследований на конференциях. Написание рукописи диссертации выполнено автором лично.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения учёных степеней, п. 9, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. Не проводился анализ степени колонизации ризосферы изучаемыми симбионтами.

2. Наблюдаемые изменения в морфометрии растений могли быть и следствием изменения микробиологического состава в почве.

3. Был отмечен низкий уровень апробации работы.

Соискатель Ананьев А.А. ответил на все вопросы, привел собственную аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласился с критическими замечаниями.

На заседании 27 октября 2026 г. диссертационный совет принял решение - за вклад в решение научной задачи – оценке возможности повышения роста растений с помощью эндофитных бактерий *V. amurensis*, имеющей значение для развития биотехнологии присудить Ананьеву А.А. ученую степень кандидата биологических наук .

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 12 докторов наук по специальности биотехнология, участвовавших в заседании, из 17 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 13, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета,
академик РАН Журавлев Юрий Николаевич

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н. Тюнин Алексей Петрович

28 октября 2026 г.